

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

36

STABLE STORING METHOD OF SUPEROXIDE DISMUTASE OF HUMAN Cu, Zn-TYPE

By

Patent number: JP1304882
 Publication date: 1999-02-03
 Inventor: FUJII KIMOSHITA, et al.
 Applicant: UBE IND LTD
 Classification:
 International: C12N9/03
 European:
 Application number: JP19880135-57/19880503
 Priority number(s):

Abstract of JP1304882

PURPOSE: To stably store human superoxide dismutase of Cu, Zn-type (human SOD) in frozen state, etc., by mixing human SOD with at least one of disaccharides, monosaccharides such as ketose or sugaralcohol.
CONSTITUTION: At least one sugar of disaccharides, monosaccharides such as ketose or sugaralcohol and human SOD are mixed and stored, thus human SOD is stably stored in frozen state or freeze-dried state. Using amount of sugar is preferably 0.05-10 times of the amount of human SOD, more preferably 0.1-6 times. Concrete example of human SOD is SOD extracted from cell, texture and organ, etc., of human and purified, one produced by microorganism with intragenic recombination and having same sequence of amino acid as human SOD. Mixing of human SOD and sugar is carried out at 0-40 deg.C, more preferably 0-15 deg.C.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

36
BY

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平1-304882

⑤ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成1年(1989)12月8日

C 12 N 9/96

7823-4B

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全15頁)

⑭ 発明の名称 ヒトCu, Zn型スーパーオキシドジスムターゼの安定保存法

⑰ 特 願 昭63-135457

⑱ 出 願 昭63(1988)6月3日

⑮ 発 明 者 福 井 喜 代 志 山口県宇部市大字小串1978番地の5 宇部興産株式会社宇部研究所内

⑯ 発 明 者 渡 辺 正 幸 山口県宇部市大字小串1978番地の5 宇部興産株式会社宇部研究所内

⑰ 出 願 人 宇部興産株式会社 山口県宇部市西本町1丁目12番32号

明 細 書

1. 発明の名称

ヒトCu, Zn型スーパーオキシドジスムターゼの安定保存法

2. 特許請求の範囲

ヒトCu, Zn型スーパーオキシドジスムターゼ(以下、ヒトSODと略す)の保存において、ヒトSODと二糖類、ケトース類の単糖類、糖アルコール類のうちの少なくとも一種以上の糖とを混合して、保存することを特徴とするヒトSODの安定保存法。

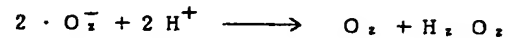
3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、特定の糖類を使用して、ヒトCu, Zn型スーパーオキシドジスムターゼ(以下、ヒトSODと略す)を凍結状態などで安定に保存する方法に関するものである。

(従来技術の説明)

ヒトSODは、下式に示す不均化反応によって、スーパーオキシドを消失させる作用を持つ酵素である。



従って、ヒトSODは、生体内で発生したスーパーオキシドによる組織障害(例えば、炎症、変形性関節炎、慢性関節リウマチ、放射線照射による障害、紫外線による障害、未熟児酸素網膜症、白内障、アドリアマイシンなどの抗癌剤の副作用、虚血部分への血流再開に伴う障害など)に対する有効な治療薬として注目されている。

ところで、蛋白質であるヒトSODは、凍結融解処理または凍結乾燥処理を行っても、その酵素活性の低下は認められず、また、不溶性物質の生成も肉眼では認められない。しかし、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミド電気泳動、高速ゲル濾過液体クロマトグラフィーなどによる分析では、前記の処理を受けたヒトSODは、主として二量体からなる副生物を生じている。

従って、ヒトSODを医薬品として使用する場合には、これを安定的に保存する必要があるが、

その保存処理で生じる副生物がアレルギーなどの副作用の原因となる恐れがあるので、その生成を防ぐ必要がある。

一般的に、蛋白質は、凍結融解処理または凍結乾燥処理によって、副生物の生成、不溶化などの変性を起こし、その生物学的活性が低下することが知られている。そして、そのような変性は、凍結融解処理または凍結乾燥処理を行う前に、その蛋白質溶液にアルブミン、DNA、カラゲニン、デキストラン、デンプンなどの生物由来の高分子化合物、アミノ酸、ポリエチレングリコールまたはグリセロールを添加して、処理することによって防止されることが知られている。

しかしながら、ヒトSODを医薬品として用いる場合には、ヒトにとって異種生物由来のアルブミン、DNA、カラゲニン、デンプンなどは、それ自体がアレルギーを引き起こすので好ましくない。また、ヒト由来のものを使用するにしても、その由来がヒトであるが故にその入手が困難であり、かつ高価であることから、その使用は実用的

ではない。

従来、SODの安定な保存法としては、ウシ由来のSOD(商品名;オルゴテイン、Diagnostic Data社製)についての保存法(米国特許第3,637,64号)がある。この場合、ウシ由来のSODの変性は、凍結乾燥処理によって25%以上となる。しかし、ウシ由来のSODの凍結乾燥処理前にペントース及びヘキソース(例えば、ガラクトース、フルクトース、フッコース、アラビノース、グルコース、マンノース、スクロースなどの糖類)とウシ由来のSODとを混合して、処理することによって、ウシ由来のSODの変性が防止されることが示されている。

しかしながら、ヒトSODの凍結乾燥処理では、ガラクトース、アラビノース、グルコースなどの単糖のアルドース類とヒトSODとを混合して処理しても、陰イオン交換クロマトグラフィーによる分析から、その変性が認められるので(比較例3~5)、単糖のアルドース類では、ヒトSODの凍結または凍結乾燥処理において、その変性を

防止するために使用する物質としては好ましくない。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明の目的は、特定の糖類を使用して処理したヒトSODの溶液を、凍結状態または凍結乾燥状態で安定に保存する方法を提供することである。

(問題点を解決するための手段)

本発明者らは、前記の問題点を解決するために鋭意研究した結果、ヒトSODの保存において、二糖類、ケトース類の単糖類、糖アルコール類のうちの少なくとも一種以上の糖とヒトSODとを混合して、保存することによって、ヒトSODを凍結状態または凍結乾燥状態で安定に保存することができることを見出し、本発明を完成した。

即ち、本発明は、

ヒトSODの保存において、二糖類、ケトース類の単糖類、糖アルコール類のうちの少なくとも一種以上の糖とヒトSODとを混合して、保存することを特徴とするヒトSODの安定保存法に関するものである。

本発明の好適態様は、糖の使用量が、ヒトSOD量の0.05~10倍、さらに好ましくは0.1~6倍の重量比であるのがよい。

以下、本発明について、さらに詳しく説明する。

本発明におけるヒトSODとしては、ヒトの細胞、組織、器官など(例えば、赤血球、肝臓、胎盤など)から抽出精製されたSOD、遺伝子組換えによって微生物に生産させたヒトSODと同一のアミノ酸配列を有するものなどを挙げることができる。

本発明において、ヒトSODを凍結または凍結乾燥状態で安定に保存するために用いる糖としては、糖アルコール類(例えば、ソルビトール、マンニトール、イノシトール、リビトールなど)、二糖類(例えば、スクロース、トレハロース、マルトース、ラクトース、イソマルトース、セロビオース、など)、ケトース類の単糖類(例えば、フルクトース、キシロース、リブロース、セドヘプツロースなど)などを挙げることができる。そして、これらの糖を単独または混合して用いる

ことができる。

ヒトSODと前記の糖との混合方法は、特に限定されず、例えば、

- (a) ヒトSOD溶液(1~100mg/ml)に糖を直接添加した後によく混合してもよいし、
- (b) ヒトSOD溶液(1~100mg/ml)に糖溶液を加えた後によく混合してもよいし、
- (c) 糖溶液にヒトSODを直接添加した後によく混合してもよい。

なお、これらの操作は、0~40℃下、好ましくは0~15℃下で行うのがよく、混合後の処理時間は、特に制限されない。

本発明におけるヒトSOD溶液または糖溶液で用いる溶媒は、特に限定されないが、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝液などの緩衝液を用いることができる。

このようにして調製した糖を含有するヒトSOD溶液は、バイアル瓶などの適当な容器に適当量入れ、-80~-15℃で凍結し、そのまま-80~-15℃で保存するか、または減圧下(20

0~500mTorr)で乾燥して-80~10℃で保存する。このようにして、ヒトSODを凍結状態または凍結乾燥状態で安定に保存することができる。

[実施例]

以下、本発明を参考例及び実施例によって具体的に説明する。なお、これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものではない。

各実施例において、ポリアクリルアミド電気泳動試験、高速ゲル濾過クロマトグラフィー試験及び陰イオン交換クロマトグラフィー試験は、それぞれ以下に示すような方法で行った。

①ポリアクリルアミド電気泳動試験

特定の糖類を混合し、処理したヒトSODの凍結または凍結乾燥保存における副生物生成の分析(以下、電気泳動分析という)を、レムリの方法[Nature, 227, 680(1970)]に準じて次の通りに行った。

濃縮ゲル濃度が3%、分離ゲル濃度が12.5%のミニスラブゲル(縦; 60mm、横; 100mm、分離部分; 45mm、穴; 10個。)を作製し、還元変性処理した試料を20μg/穴の割合で穴に入れ、20mAの一定電流下で泳動後、コマーシブリアントブルーR-250を用いてその泳動試料を染色した。分子量マーカーとしてフェルマシア社製の電気泳動用のものを使用した場合には、ヒトSODは20KD(キログルトン)(モノマー)の位置に、また、副生物は40KDの位置に確認される。

②高速ゲル濾過クロマトグラフィー試験
特定の糖類を混合し、処理したヒトSODの凍結または凍結乾燥保存における副生物生成の高速ゲル濾過クロマトグラフィーによる分析(以下、ゲル濾過分析という)を、次の通りに行った。

②高速ゲル濾過クロマトグラフィー試験

特定の糖類を混合し、処理したヒトSODの凍結または凍結乾燥保存における副生物生成の高速ゲル濾過クロマトグラフィーによる分析(以下、ゲル濾過分析という)を、次の通りに行った。

カラムとしてTSK-3000SW(東洋曹達製)、溶出液として50mMリン酸ナトリウム-0.2M塩化ナトリウム溶液(pH7)を用い、流速0.7ml/minで行った。分子量マーカーとしてオリエンタル酵母社の高速ゲル濾過クロマトグラフィーを用いた場合には、ヒトSODは40

KDの位置に確認され、副生物は79KDの位置に確認された。

③陰イオン交換クロマトグラフィー試験

特定の糖類を混合し、処理したヒトSODの凍結または凍結乾燥保存における変化を、カラムとしてTS-DEAE 5PW(東洋曹達製)を用いた陰イオン交換クロマトグラフィーによる分析(以下、DEAE分析という)で、次の通りに行った。

カラムとしてTS-DEAE 5PWを用い、溶出液としてA液[20mMトリス酢酸(pH8.5)]とB液[20mMトリス酢酸-0.5M酢酸ナトリウム(pH8.5)]とを用いたリニアグラディエント法(B液を74分で0%から15%とした。)によって、流速0.8ml/minで行った。

実施例1

0.37mlのヒトSOD溶液(ヒトSOD100mg/蒸留水1ml)に74mgの糖アルコール類であるソルビトールを加えた後に、蒸留水で

全量を1mlとした。これをバイアル瓶に入れ、 -20°C で凍結した後、室温下で融解し、前記試験法のゲル濾過分析(②)及びDEAE分析(③)で糖添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析では、79KDの副生物が認められた。そして、その生成量は、連続5回の凍結融解で0.007%、連続10回の凍結融解で0.008%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

実施例2

ソルビトールの代わりに糖アルコール類であるイノシトールを用いた以外は、実施例1と同様にして糖添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、連続5回、連続10回の凍結融解で、それぞれ0.014、0.011%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

スを用いた以外は、実施例1と同様にして糖添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、連続5回、連続10回の凍結融解で、それぞれ0.004、0.007%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

比較例1

ソルビトールを用いない以外は、実施例1と同様にして糖無添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、連続5回、連続10回の凍結融解で、それぞれ0.019、0.028%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

実施例1～5における糖添加、及び比較例1における糖無添加による凍結保存ヒトSODの安定性についての結果を、第1表に示す。

れなかった。

実施例3

ソルビトールの代わりに二糖類であるスクロースを用いた以外は、実施例1と同様にして糖添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.004、0.008%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

実施例4

ソルビトールの代わりに二糖類であるトレハロースを用いた以外は、実施例1と同様にして糖添加による凍結保存ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、連続5回、連続10回の凍結融解で、それぞれ0.008、0.007%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった。

実施例5

ソルビトールの代わりに二糖類であるマルトース

第1表

実施例	添加糖	回数	試験法② 79KD(%)	試験法③ 変性
1	ソルビ トール	5 10	0.007 0.008	無
2	イノシ トール	5 10	0.004 0.011	無
3	スクロ ース	5 10	0.004 0.008	無
4	トレハ ロース	5 10	0.008 0.007	無
5	マルト ース	5 10	0.004 0.007	無
比較例1 (糖無添加)		5 10	0.019 0.028	無

実施例6

0.5mlのヒトSOD溶液(ヒトSOD100mg/蒸留水1ml)に100mgの糖アルコール類であるソルビトールを加えた後に、蒸留水で全量を1mlとした。これをバイアル瓶に入れ、 -80°C で凍結した後、減圧下(200～500

m T o r r) で一晚乾燥した。得られた凍結乾燥ヒトSODを蒸留水に溶解した後、凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.08%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第1図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は、認められなかった。

実施例7

ソルビトールの代わりに糖アルコール類であるマンニトールを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.23%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第2図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物が認められた。

示す副生物は認められなかった。

実施例10

ソルビトールの代わりに二糖類であるトレハロースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.05%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第5図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

実施例11

ソルビトールの代わりに二糖類であるマルトースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.01%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第6図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを

実施例8

ソルビトールの代わりに糖アルコール類であるイノシトールを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.11%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第3図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

実施例9

ソルビトールの代わりに二糖類であるスクロースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.04%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第4図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを

示す副生物は認められなかった。

実施例12

ソルビトールの代わりに二糖類であるラクトースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第7図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

実施例13

ソルビトールの代わりにケトース類の単糖類であるフルクトースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.01%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第8図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

比較例2

ソルビトールを用いない以外は、実施例6と同様にして糖無添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.45%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性は認められなかった(第12図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物が認められた。

比較例3

ソルビトールの代わりに単糖類であるアラビノースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.03%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性が認められた(第9図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

実施例6～13及び比較例3～5における糖添加、及び比較例2における糖無添加による凍結乾燥保存ヒトSODの安定性についての結果を、第2表に示す。

(以下、余白)

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

比較例4

ソルビトールの代わりに単糖類であるグルコースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.01%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性が認められた(第10図)。

電気泳動分析においては、分子量が40KDを示す副生物は認められなかった。

比較例5

ソルビトールの代わりに単糖類であるガラクトースを用いた以外は、実施例6と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79KDの副生物の生成量は、0.06%であった。

DEAE分析では、ヒトSODの変性が認められた(第11図)。

第2表

実施例	試験法① 40KD	試験法② 79KD(%)	試験法③ 変性
6	無	0.08	無
7	有	0.23	無
8	無	0.11	無
9	無	0.04	無
10	無	0.05	無
11	無	0.01	無
12	無	0	無
13	無	0.01	無
比較例2	有	0.45	無
比較例3	無	0.03	有
比較例4	無	0.01	有
比較例5	無	0.06	有

実施例 14

0.5 ml のヒトSOD溶液(ヒトSOD 100 mg/蒸留水 1 ml)に5 mg の糖アルコール類であるソルビトールを加えた後に、蒸留水で全量を1 ml とした。これをバイアル瓶に入れ、-20℃で凍結した後、減圧下(200~500 mTorr)で一晩乾燥した。得られた凍結乾燥ヒトSODを蒸留水に溶解した後、凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.236%であった。

実施例 15

ソルビトールを12.5 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.104%であった。

実施例 16

ソルビトールを25 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSOD

生成量は、0.026%であった。

実施例 20

ソルビトールを300 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0%であった。

比較例 6

ソルビトールを用いない以外は、実施例14と同様にして糖無添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.425%であった。

実施例14~20における糖添加及び比較例6における糖無添加による凍結乾燥保存ヒトSODの安定性についての結果を、第3表及び図13に示す。

Dの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.065%であった。

実施例 17

ソルビトールを50 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.038%であった。

実施例 18

ソルビトールを100 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の生成量は、0.012%であった。

実施例 19

ソルビトールを200 mg 用いた以外は、実施例14と同様にして糖添加による凍結乾燥ヒトSODの安定性を検討した。

ゲル濾過分析で認められた79 KDの副生物の

第3表

実施例	ヒトSOD (mg)	ソルビトール (mg)	試験法② 79KD(%)
14	50	5	0.236
15	50	12.5	0.104
16	50	25	0.065
17	50	50	0.038
18	50	100	0.012
19	50	200	0.026
20	50	300	0
比較例6	50	0	0.425

【発明の効果】

本発明の方法(即ち、二糖類、ケトース類の単糖類、糖アルコール類のうちの少なくとも一種以上の糖とヒトSODとを混合し、処理して得られた溶液を凍結または凍結乾燥する方法)によって、ヒトSODを凍結または凍結乾燥状態で安定に保存することができる。

4. 図面の説明

第1図は、実施例6に記載したDEAE分析の結果を示す。

第2図は、実施例7に記載したDEAE分析の結果を示す。

第3図は、実施例8に記載したDEAE分析の結果を示す。

第4図は、実施例9に記載したDEAE分析の結果を示す。

第5図は、実施例10に記載したDEAE分析の結果を示す。

第6図は、実施例11に記載したDEAE分析の結果を示す。

第7図は、実施例12に記載したDEAE分析の結果を示す。

第8図は、実施例13に記載したDEAE分析の結果を示す。

第9図は、比較例3に記載したDEAE分析の結果を示す。

第10図は、比較例4に記載したDEAE分析

の結果を示す。

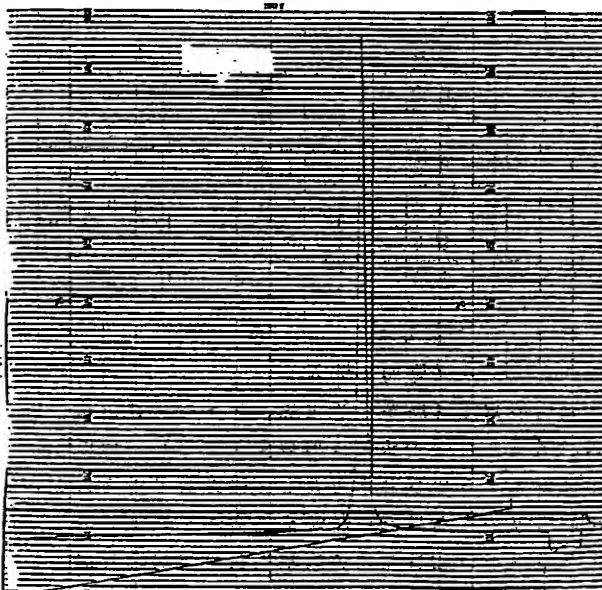
第11図は、比較例5に記載したDEAE分析の結果を示す。

第12図は、比較例2に記載したDEAE分析の結果を示す。

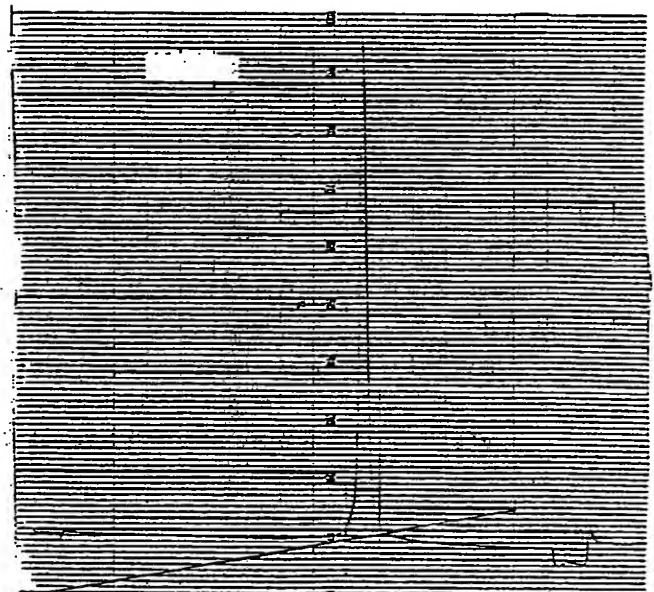
第13図は、実施例14～20における糖添加及び比較例6における糖無添加による凍結乾燥保存ヒトSODの安定性の結果を示す。

特許出願人 宇部興産株式会社

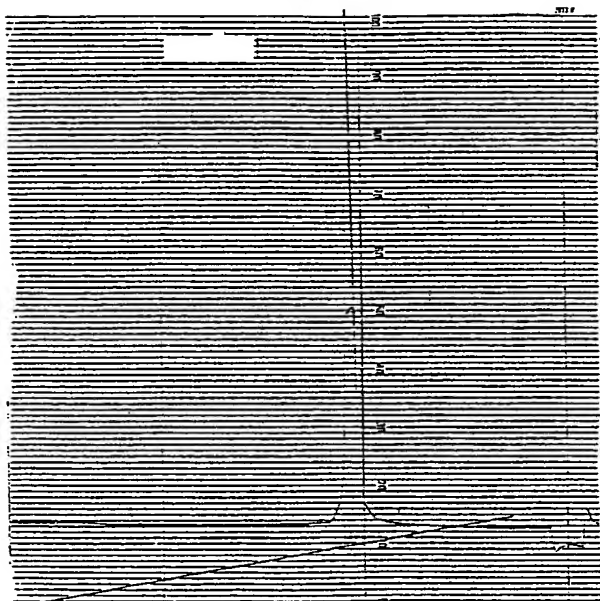
第1図



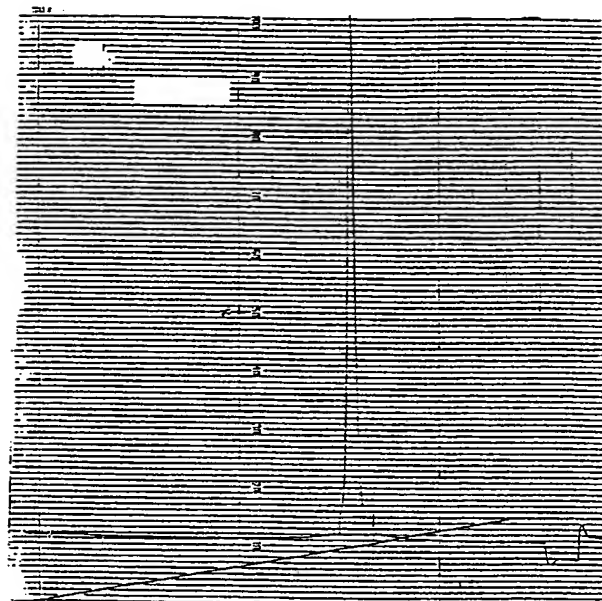
第2図



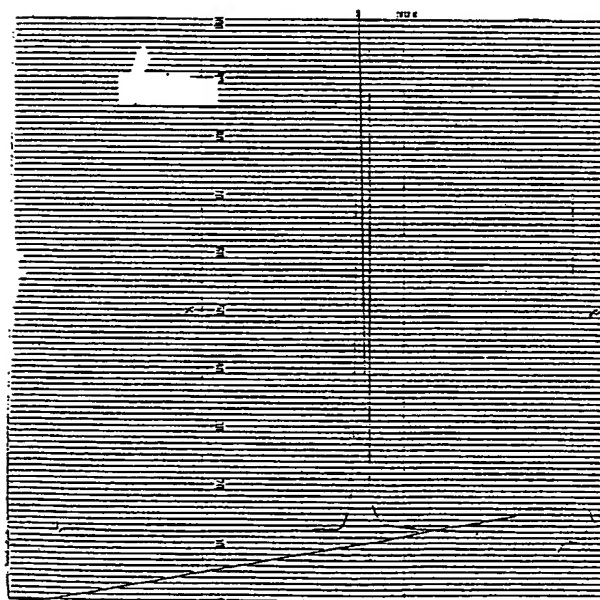
第3図



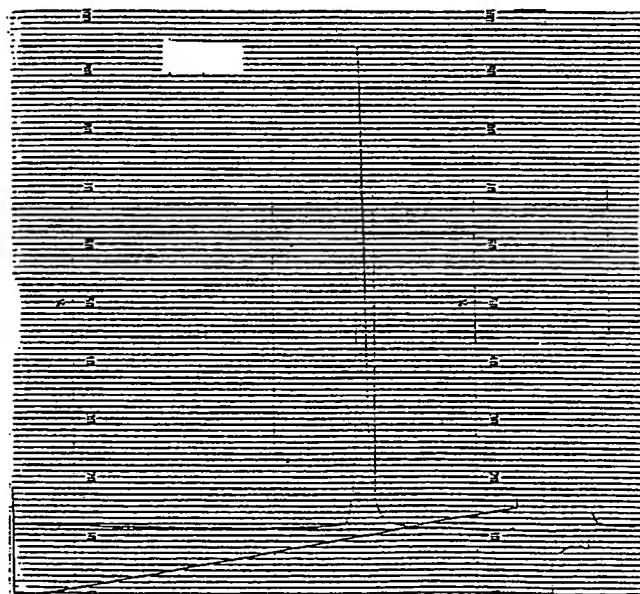
第4図



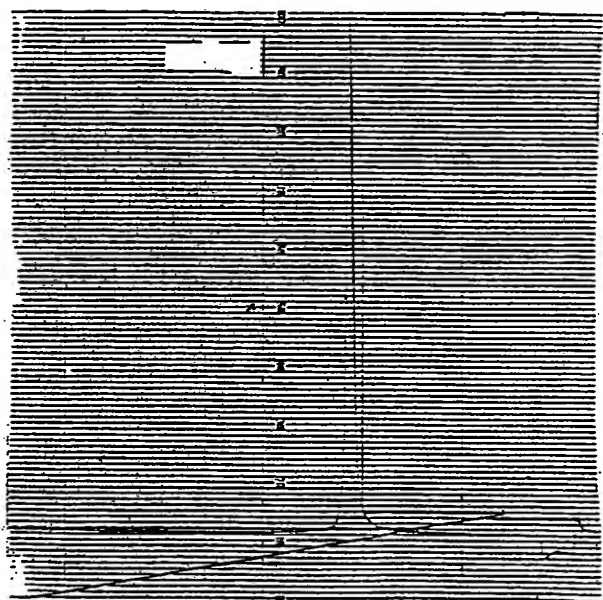
第5図



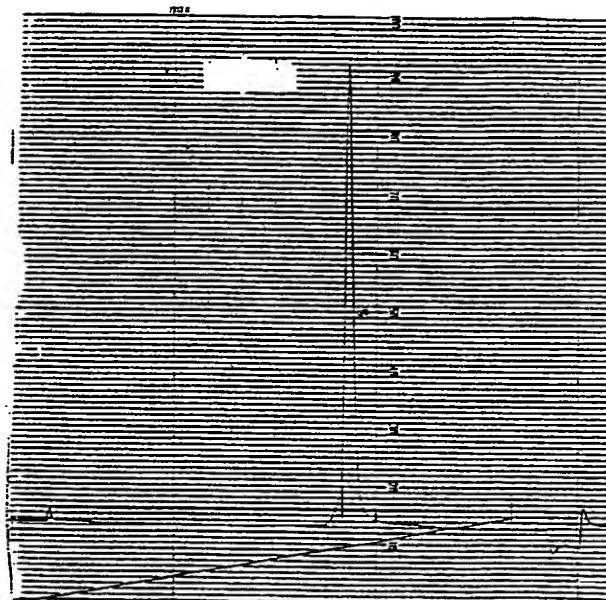
第6図



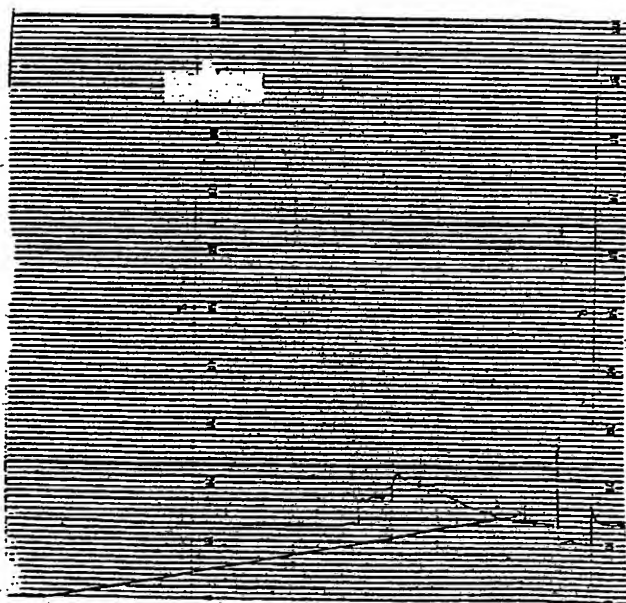
第7図



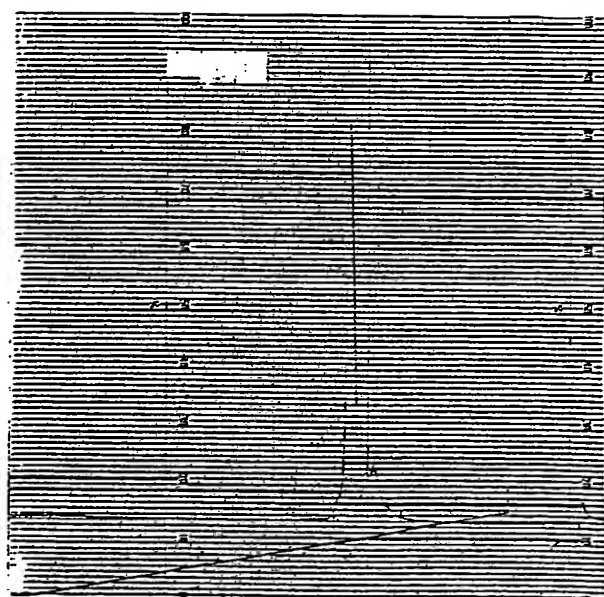
第8図



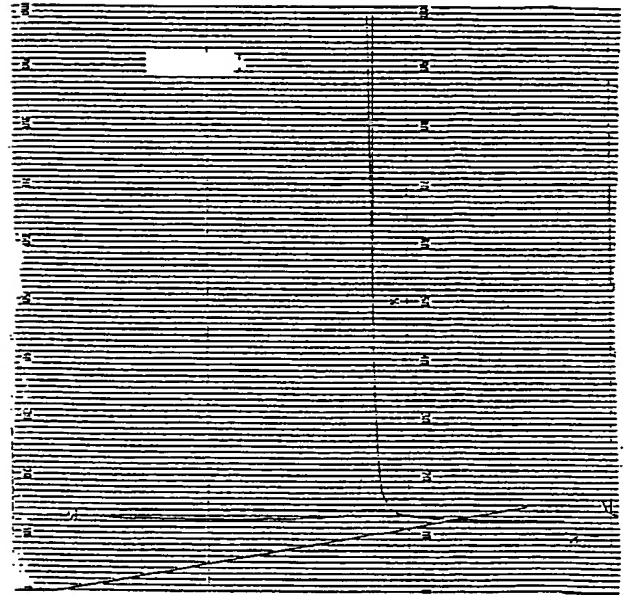
第9図



第10図



第12図



第11図



手続補正書（方式）

昭和63年9月27日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

特願昭63-135457号

2. 発明の名称

ヒトCu, Zn型スーパーオキシドジスムターゼの安定保存方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

郵便番号 755

山口県宇部市西本町1丁目12番32号

(020) 宇部興産株式会社

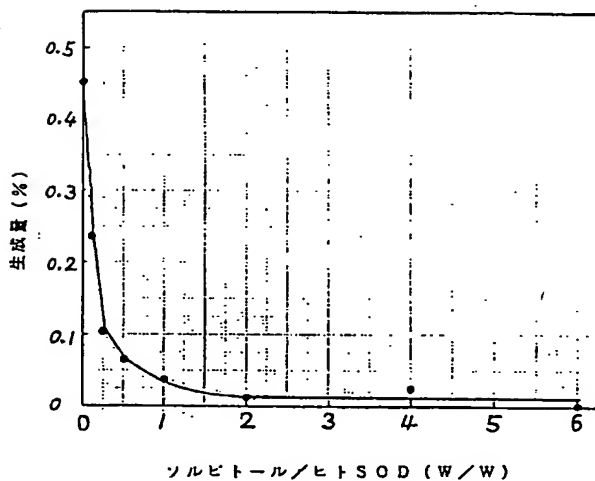
代表者 清水 保夫



4. 補正命令の日付

発送日：昭和63年8月30日

第13図



特許庁

5. 補正により増加する発明の数 (なし)

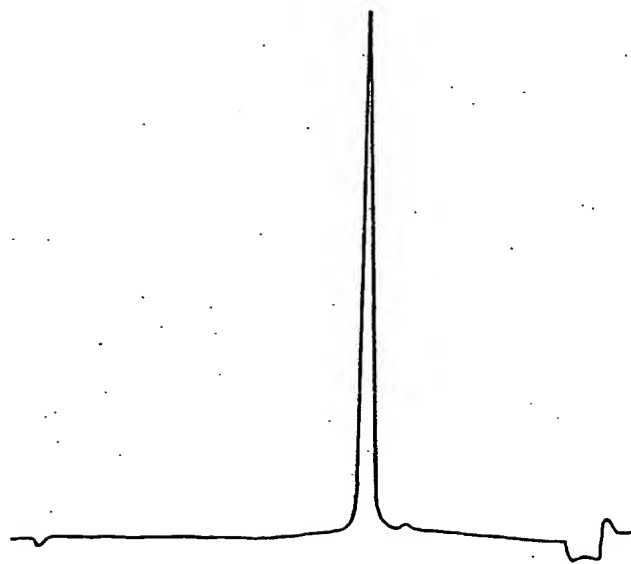
6. 補正の対象
図面

第1図

7. 補正の内容

(1) 図面の第1図～第13図を別紙の通り補正する。

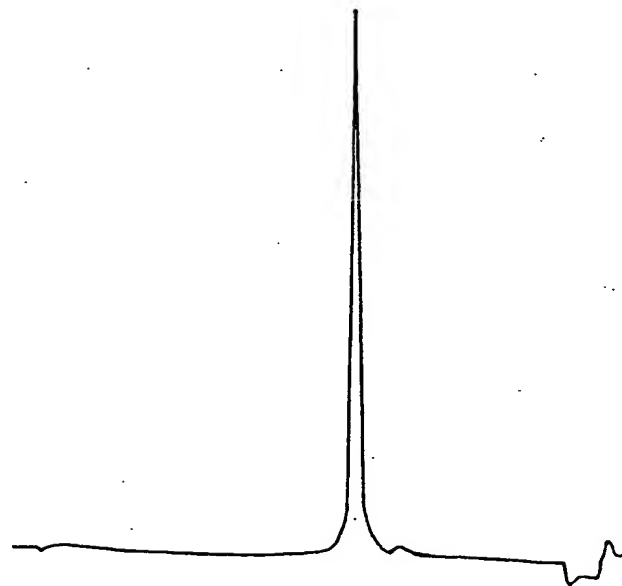
以 上



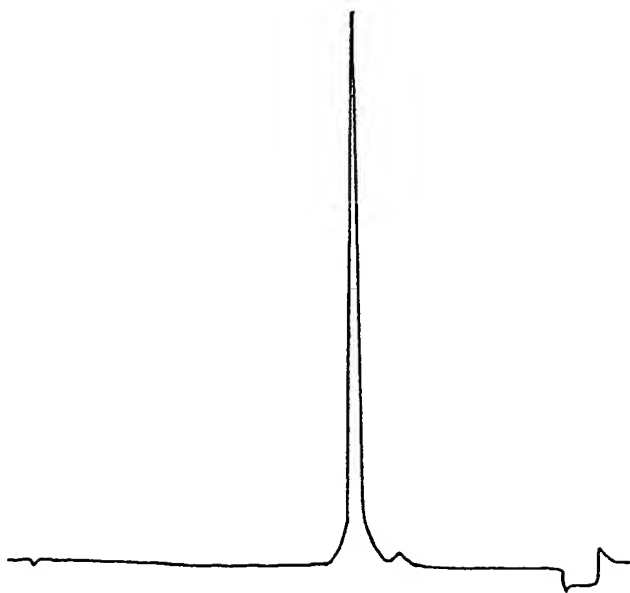
第2図



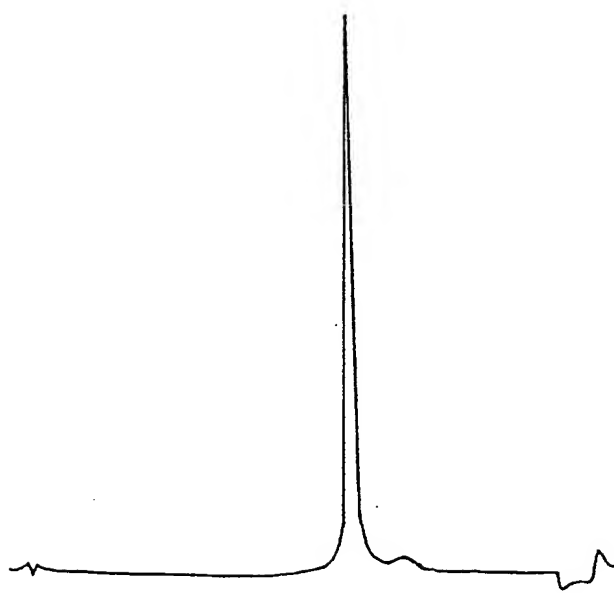
第3図



第4図



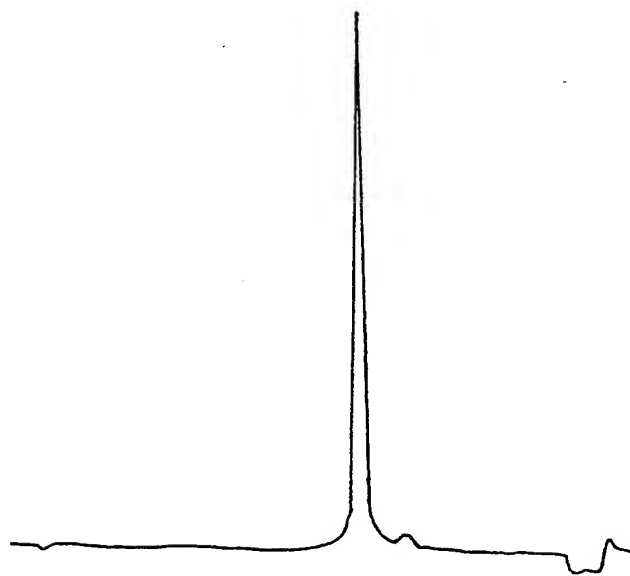
第5図



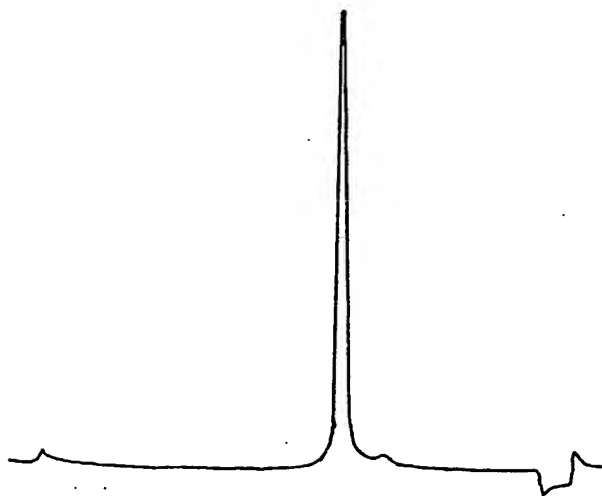
第6図



第7図



第 8 図



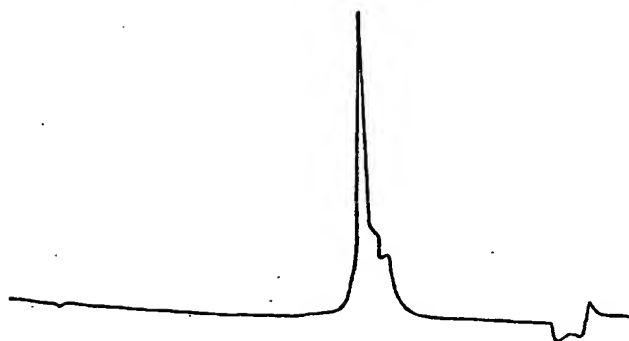
第 9 図



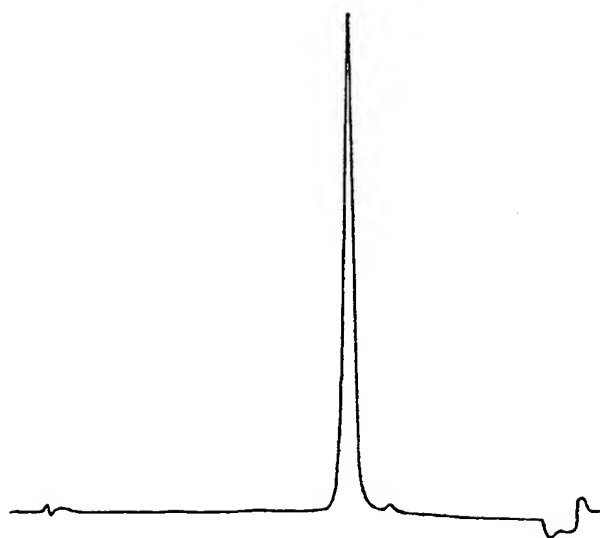
第 10 図



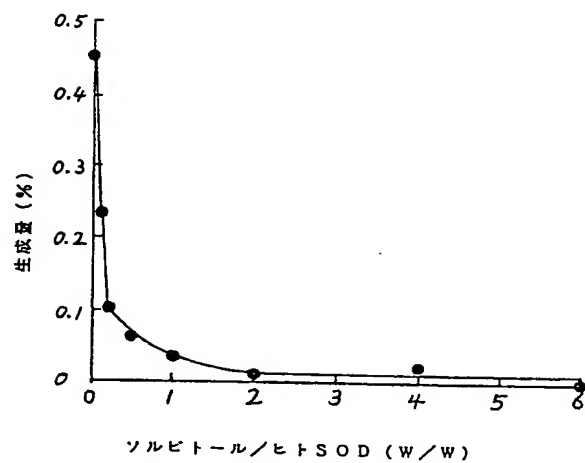
第 11 図



第12図



第13図



XP-002213308

AN - 1990-026625 [04]

AP - JP19880135457 19880603

CPY - UBEI

DC - B04 D16

DR - 0032-U 0134-U 0135-U 0173-U 0241-U 0290-U 0292-U 0543-U

FS - CPI

IC - C12N9/96

MC - B04-B02C2 B04-D01 B07-A02 B10-A07 B12-M06 D05-A02

M1 - [01] A429 A430 M423 M431 M782 M903 Q233 V802 V811; 1327-U 0502-U

M2 - [02] H4 H405 H484 H8 K0 L8 L814 L821 L833 M280 M315 M321 M332 M344
M383 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q233 Q620; R00032-M;
1327-U 0502-U

- [03] H4 H405 H484 H8 K0 L8 L816 L821 L833 M280 M315 M321 M332 M344
M383 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q233 Q620; R00290-M;
1327-U 0502-U

- [04] G037 G563 H4 H405 H464 H8 M280 M320 M415 M431 M510 M520 M530 M541
M782 M903 M904 M910 Q233 Q620; R00543-M; 1327-U 0502-U

- [05] F012 F013 F014 F015 F016 F017 F019 F113 F123 H4 H405 H424 H483 H5
H521 H8 K0 L8 L814 L818 L822 L831 M1 M126 M141 M280 M311 M323 M342
M373 M393 M413 M431 M510 M522 M530 M540 M782 M903 M904 M910 Q233 Q620;
R00135-M; 1327-U 0502-U

- [06] F012 F013 F014 F015 F016 F123 H4 H405 H423 H484 H5 H521 H8 J4
J471 K0 L8 L814 L819 L822 L831 M280 M311 M315 M321 M332 M342 M344 M349
M373 M381 M391 M413 M431 M510 M521 M530 M540 M782 M903 M904 M910 Q233
Q620; R00292-M; 1327-U 0502-U

- [07] F012 F013 F014 F015 F016 F123 H4 H405 H423 H484 H5 H521 H8 J4
J471 K0 L8 L814 L815 L822 L831 M280 M311 M315 M321 M332 M342 M344 M349
M373 M381 M391 M413 M431 M510 M521 M530 M540 M782 M903 M904 M910 Q233
Q620; R00241-M; 1327-U 0502-U

- [08] H4 H405 H484 H8 J5 J581 K0 L8 L818 L821 L831 M280 M311 M314 M321
M332 M342 M344 M349 M381 M392 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q233
Q620; R00134-M; 1327-U 0502-U

- [09] H4 H404 H484 H8 J4 J471 K0 L8 L818 L821 L831 M280 M314 M321 M332
M344 M349 M381 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q233 Q620;
R00173-M; 1327-U 0502-U

- [10] F012 F013 F014 F015 F016 F019 F123 F199 H4 H405 H424 H482 H484
H521 H8 J471 J581 K0 L8 L812 L814 L818 L819 L821 L822 L831 L833 M126
M141 M280 M311 M312 M313 M314 M315 M321 M322 M332 M342 M343 M344 M349
M373 M381 M383 M391 M392 M413 M416 M431 M510 M522 M530 M540 M620 M782
M903 M904 Q233; R06063-M R06064-M R10994-M R12593-M R14804-M R19139-M
R19140-M; 1327-U 0502-U

PA - (UBEI) UBE IND LTD

PN - JP1304882 A 19891208 DW199004 015pp

PR - JP19880135457 19880603

XA - C1990-011603

XIC - C12N-009/96

AB - J01304882 For preservation of human Cu, Zn type superoxide dismutase
(hSOD) at least one kind of disaccharides, monosaccharides of ketoses,
sugar alcohols are combined with hSOD.

- Pref. using amt. of saccharides are 0.1-6 wt. fold against hSOD. As
saccharide, sugar alcohols (e.g. sorbitol, mannitol, inositol,